Acta Œcologica, 1990, **11** (5), 701-717.

Étude expérimentale de l'influence de la fertilisation phosphatée sur le prélèvement du cuivre par *Pinus pinaster Soland in Ait.*

E. Saur

Station d'Agronomie, INRA, Centre de Recherches de Bordeaux, B.P. n° 81, 33883 Villenave-d'Ornon Cedex

RÉSUMÉ

La mise en évidence d'un antagonisme entre la fertilisation phosphatée et la nutrition en cuivre du pin maritime nous a conduit à étudier les mécanismes de cette interaction, tant au niveau de la solution du sol qu'à celui de l'absorption et du transfert dans la plante.

D'après cette étude, l'interaction entre phosphore et cuivre représente un phénomène complexe; le schéma d'interprétation que nous proposons est basé sur les résultats de nos expérimentations mais fait aussi appel à un certain nombre d'hypothèses qu'il conviendra de vérifier.

L'addition de phosphates entraîne un supplément de solubilisation du cuivre du sol alors que, paradoxalement, l'aptitude des exsudats racinaires du pin à mobiliser ce métal se trouve simultanément abaissée. On peut donc émettre l'hypothèse qu'un accroissement de la solubilité est vraisemblablement la conséquence d'une stimulation de l'activité microbienne provoquée par l'ajout de phosphore; il convient donc de faire appel à des mécanismes physiologiques pour expliquer la diminution de l'absorption de Cu en présence de P.

Les expérimentations réalisées en milieu hydroponique nous ont montré en effet que l'augmentation de la richesse en phosphore des tissus du végétal induit un freinage de l'absorption du cuivre et de son transfert des racines vers les parties aériennes. L'accumulation du métal dans les parties aériennes dépend en fait beaucoup moins de sa disponibilité dans le milieu ou de sa concentration dans les racines que du métabolisme général de la plante et plus particulièrement du niveau d'alimentation en phosphore.

MOTS-CLÉS : nutrition des plantes, absorption racinaire, transfert interne, exsudat racinaire, antagonisme, phosphore, cuivre, solution du sol, *Pinus pinaster*.

ABSTRACT

The presence of phosphate in soils strongly depresses the copper concentrations in needles of maritime pine. This antagonism between phosphorus fertilization and copper nutrition is analysed in terms of soil solution and plant reactions. Phosphate fertilization enhances water soluble copper concentration influenced by microbial activity, in spite of the decrease in root exudate effect on the copper solubility. Hydroponic culture shows endogenous interactions between phosphorus metabolism and both mechanisms of copper absorption and copper translocation. No phosphorus-copper ionic competition arises for absorption sites.

KEYWORDS: plant nutrition, root absorption, translocation, root exudate, antagonism, phosphorus, copper, soil solution, *Pinus pinaster*.

Acta Œcologica 1146-609 X/90/05/701/16/$ 3.60/ © Gauthier-Villars

1. INTRODUCTION

L'observation des peuplements de pin maritime dans les Landes de Gascogne permet de décrire des troubles de croissance qui se manifestent localement sur arbres adultes (conformation flexueuse des axes principaux et des jeunes pousses) ou sur jeunes semis (flexuosité des pousses de 3e année, verse) – et ce, semble-t-il, indépendamment d'attaques parasitaires identifiables.

La nature des troubles observés conduit à incriminer une alimentation insuffisante en cuivre: d'une part, en raison du rôle que joue ce métal dans les processus de lignification et, d'autre part, en raison de la similitude de ces troubles avec ceux traduisant des carences en cuivre reconnues chez le douglas, le mélèze et le pin radiata. Cette hypothèse est confirmée par des résultats d'expériences de pulvérisation foliaire de cuivre non encore publiés.

Les malformations se rencontrent dans tous les types de terrains, mais beaucoup plus rarement cependant dans les sols dunaires; les accidents sont surtout fréquents dans les peuplements fertilisés en phosphore, bien ou très bien venant, où les techniques de la sylviculture moderne favorisent la nutrition en éléments majeurs.

Plus précisément, l'amélioration de la fertilisation phosphatée provoque une augmentation des teneurs en cuivre soluble du sol et des teneurs en cuivre total des racines, accompagnée d'une baisse dans les parties aériennes jusqu'à des niveaux critiques (<2 mg/kg MS) (SAUR, 1990 *a-b*). Ce dernier résultat, obtenu pour des semis de 6 mois cultivés en serre, a été confirmé pour des arbres de plein champ âgés de 3 et de 24 ans (SAUR, 1989).

C'est donc dans le but d'analyser l'influence des facteurs édaphiques sur la croissance et la physiologie du pin que nous nous proposons de détailler le rôle des teneurs en phosphore du sol sur la nutrition en cuivre du végétal.

L'influence de la nutrition en phosphore sur le prélèvement du cuivre a déjà fait l'objet d'un certain nombre d'études chez les espèces d'intérêt agronomique. Ces études ont été réalisées, soit à la suite de l'utilisation prolongée de fortes doses d'engrais phosphaté soit lors d'expériences conduites en milieu nutritif (SAUR, 1990 *c*: revue bibliographique).

Le ou les mécanismes intervenant dans l'interaction phosphore-cuivre ne sont pas connus à ce jour. Il est néanmoins possible de formuler plusieurs hypothèses basées sur diverses modalités d'action du phosphore:

– sur le cuivre disponible dans la solution du sol, en modifiant l'exsudation racinaire ou l'activité des micro-organismes. En effet, ces deux processus dépendant de la teneur en phosphore du sol ou de la plante sont susceptibles d'intervenir sur la mise en solution du cuivre par modification du pH du sol ou la formation de complexes organo-métalliques solubles;

– sur l'absorption du cuivre par compétition pour les sites de transport ou par une modification du métabolisme cellulaire;

– sur le transfert vers les parties aériennes.

Nous allons tester ces différentes hypothèses en étudiant, dans un premier temps, les processus mis en jeu dans la solution du sol et, ensuite à l'aide de techniques de culture hydroponique, les réactions physiologiques de la plante en milieu contrôlé.

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

Ces expérimentations en milieu contrôlé (température, éclairement, hygrométrie, alimentation minérale) ont été conduites en vue d'étudier les interactions entre les nutritions en phosphore et en cuivre, tout en prenant en compte l'absorption et les transferts internes d'éléments minéraux ainsi que l'exsudation racinaire de produits organiques solubles.

2.1. Conduite de la culture

Après stérilisation des cuticules au péroxyde d'hydrogène 130 volumes pendant 1 heure, les graines sont mises à germer sur du papier filtre humidifié.

Lorsque la radicule atteint 2 cm, les plantules sont repiquées par lots de 50 sur des disques en polystyrène préalablement percés avec une aiguille. Chaque disque est installé dans un récipient cylindrique contenant 2,5 l de solution nutritive dont la composition, inspirée de celle utilisée par Seillac (1960), est indiquée dans le tableau I. Cette solution, diluée dans le rapport 1/2 et ajustée à pH 4,5, ne contient pas de cuivre en raison de la nature des expériences poursuivies.

Tableau I. – *Composition de la solution nutritive de référence.*

	Concentration (mg/l)	Concentration (mEq/l)
$MgSO_4$, $7\,H_2O$	123	1,0
$CaCl_2$, $2\,H_2O$	73	1,0
KH_2PO_4	136	2,0
NH_4NO_3	320	4,0
H_3BO_3	1,03	$5{,}0.10^{-2}$
$MnCl_2$, $4\,H_2O$	0,594	$6{,}0.10^{-3}$
$ZnCl_2$	0,041	$6{,}0.10^{-4}$
Na_2MoO_4, $2\,H_2O$	0,007	$5{,}8.10^{-5}$
$FeSO_4$, $7\,H_2O$	28	$2{,}0.10^{-1}$
Acide citrique	400	2,0

Les milieux de culture, aérés en permanence par insufflation d'air, sont renouvelés chaque semaine. La solution diluée de moitié est maintenue pendant 15 jours puis modifiée en fonction des traitements.

Toutes les cultures sont conduites en chambre climatisée, réglée selon les conditions suivantes :
- jour 18 heures; température 25°C;
- nuit 6 heures; température 15°C;
- hygrométrie : 70-80 % humidité relative.

2.2. Protocoles expérimentaux

2.2.1. *Absorption du cuivre par la plante entière*

Les plantules sont cultivées pendant 1 mois, dont 15 jours avec la solution nutritive diluée de moitié et 15 jours avec la solution complète contenant 0, 1, 2 ou 3 fois la dose de phosphore de référence (0, 30, 60, 90 mg P/l, soit 0, 1, 2, 3 mM). Elles sont ensuite plongées pendant 48 heures dans des solutions de sulfate de cuivre contenant 0, 0,1, 0,25, 0,5 ou 1 mg Cu/l (soit 0, 1,54, 3,94, 7,87 ou 15,7 mM) puis prélevées en vue des analyses de tissus. La même expérience est menée avec du sulfate de cuivre additionné de différents acides organiques ou de phosphate de potassium. Toutes les solutions sont ajustées à pH 4,5.

2.2.2. *Transfert du cuivre dans la plante*

Après les 15 jours de culture initiale, les systèmes racinaires sont plongés pendant 24 heures dans une solution de sulfate de cuivre à 1 mg Cu/l. Ils sont ensuite maintenus pendant 15 jours dans la

solution nutritive complète contenant 1, 2 ou 3 fois la dose de phosphore de référence (phosphate de potassium 0, 1, 2 ou 3 mM).

2.3. Collecte des exsudats

Les exsudats sont récoltés après 1 mois de culture dans des solutions ajustées à différents niveaux de phosphore. Après un rinçage abondant, les racines sont plongées pendant 24 heures dans de l'eau distillée. La solution ainsi obtenue est filtrée à 0,45 m puis congelée en vue des utilisations ultérieures. Les exsudats de 50 plants sont récoltés dans 21 d'eau.

2.4. Traitement des données

Chacun des résultats statistiquement analysés est la moyenne de cinq mesures. L'effet des traitements sur chacune des variables a été testé par une comparaison de moyennes deux à deux, utilisant la méthode du critère *t* de Student corrigée (méthode dite de Bonferroni). Les tests ont été conduits à l'aide de la programmathèque d'Amance (Bachacou *et al.*, 1981).

Les techniques d'analyses chimiques sont décrites dans Saur (1990 *a*).

3. EFFET DES PHOSPHATES SUR LA MOBILITÉ DU CUIVRE DANS LE SOL

Il s'agit dans un premier temps de tester l'hypothèse d'une action du phosphore sur le cuivre disponible dans la solution du sol, soit de manière directe (phénomène physico-chimique), soit par l'intermédiaire du végétal (exsudation racinaire).

3.1. Résultats

3.1.1. *Pouvoir solubilisant en temps court de solutions de phosphate sur le cuivre du sol*

Nous avons voulu savoir si les phosphates exerçaient une action dissolvante directe sur le cuivre du sol. Dans ce but, 50 g de sol de lande humide ont été agités pendant 4 heures dans 100 ml de solution à 10 mg/l de phosphore. L'expérience a été répétée avec de l'acide phosphorique, des phosphores de calcium, de sodium et de potassium.

Les résultats du tableau II indiquent que les solutions de phosphore n'ont eu, en temps court, aucun effet sur les teneurs en cuivre soluble. L'hypothèse d'une solubilisation du cuivre du sol par le phosphore ajouté ne peut donc être retenue.

Il est important de distinguer :

– l'effet spectaculaire de la fertilisation phosphatée sur la solubilisation du cuivre dans un sol incubé pendant 6 mois en l'absence de végétation (Saur, 1990 *a*).

– et l'inefficacité des solutions de phosphate à extraire le cuivre en un temps court (4 heures), ne permettant pas le développement d'une action des micro-organismes sur l'équilibre entre le cuivre insoluble et soluble (tableau II). Comme en témoignent les teneurs en cuivre total mesurées dans des sols fertilisés en début et en fin de culture (non publié), les apports de superphosphates ne constituent pas une source de pollution en cuivre significative susceptible de perturber les phénomènes observés.

TABLEAU II. — *Teneurs en cuivre soluble extrait par différentes solutions contenant* 10 *mg P/l.*

Extractant	Cu soluble (µg/kg sol sec)		
	Moyenne	Écart-type	pH
Eau distillée	13,9	1,4	3,7
H_3PO_4	14,0	1,6	3,4
$Ca\ (H_2PO_4)_2$	13,7	1,2	3,6
NaH_2PO_4	15,6	1,7	3,5
KH_2PO_4	14,7	1,4	3,6

Dans une même colonne, les valeurs ne sont pas significativement différentes.

3.1.2. *Effet de la nutrition phosphorée sur la mobilisation du cuivre par les exsudats racinaires*

Le rôle des exsudats racinaires solubles dans la nutrition minérale a été reconnu par de nombreux auteurs. Ces composés interviennent, entre autres, sur le pH et les conditions redox de la solution rhizosphérique et tendent à augmenter la solubilité des cations (GARDNER & PARBERY, 1982; LEYVAL & BERTHELIN, 1983; RÖHMELD & MARSCHNER, 1983). Mais il faut citer aussi la formation de complexes organo-métalliques, déterminante pour le maintien en solution et la biodisponibilité des métaux (LINDSAY, 1974; NIELSEN, 1976; MERCKX, 1983; MENCH *et al.*, 1988).

L'hypothèse d'une action solubilisante des exsudats racinaires du pin sur le cuivre a déjà été démontrée dans des expériences préliminaires (SAUR & GOMEZ, 1989). A présent, nous allons étudier le rôle des phosphates sur ce phénomène.

Les exsudats sont récoltés sur des plantules de 1 mois ayant subi différents niveaux de nutrition phosphorée. Le tableau III montre qu'il n'y a pas de différences

TABLEAU III. — *Production d'exsudats par des pins soumis à différents niveaux de nutrition phosphatée* (mg C/g racine MS)

Traitement P	Moyenne	Écart-type
0	12,8	1,0
30	12,2	1,1
60	12,0	0,8
90	12,0	0,8

Dans une colonne, les valeurs ne diffèrent pas significativement au seuil de 5 %. Traitements P = mg/l.

significatives sur la production d'exsudats estimée par le carbone total. Le pouvoir solubilisant des solutions d'exsudats ainsi récoltés a été testé sur un sol de lande humide. Les quatre solutions utilisées contiennent 12 mg Cu/l et des traces de cuivre insignifiantes par rapport aux teneurs finales.

Il apparaît de manière hautement significative qu'à dose égale de carbone, les exsudats issus de plants moins bien alimentés en phosphore s'avèrent plus efficaces pour la mobilisation du cuivre (tableau IV).

TABLEAU IV. — *Cuivre soluble à l'eau extrait par des solutions d'exsudats à 12 mg C/l provenant de plants cultivés avec différentes doses de phosphore.*

Traitements	Moyenne	Écart-type
P 0	26,2 *d*	1,0
P 30	25,5 *d*	0,9
P 60	20,6 *c*	0,6
P 90	17,5 *b*	0,4
Témoin eau distillée	10,6 *a*	0,6

Deux valeurs suivies de la même lettre ne diffèrent pas significativement au seuil de 1 %. Traitement P = mg/l.

3.2. DISCUSSION

La fertilisation phosphatée, apportée à un sol cultivé ou non et maintenu pendant plus de 6 mois à 60 % de sa capacité de rétention en eau, augmente de façon significative les teneurs en cuivre hydrosoluble du sol (SAUR, 1990 *b*). Cette constatation confirme les résultats de BINGHAM et GARDNER (1960).

Dans une expérience de courte durée (quelques heures), nous avons observé que ce phénomène ne peut être relié à une action strictement chimique des phosphates agissant comme réactif d'extraction de la fraction solide du sol (tableau II).

La solubilisation du cuivre sous l'influence des phosphates semble faire intervenir des processus biologiques, où seraient impliqués la micro flore du sol ou bien le végétal et la microflore rhizosphérique qui lui est associée.

En ce qui concerne l'intervention du végétal, les résultats peuvent être interprétés en termes d'antagonisme entre la fertilisation phosphatée et l'aptitude du pin à mobiliser le cuivre du sol. Compte tenu de ce fait, nous en déduisons, par défaut, que c'est l'activité de la microflore du sol qui déterminerait l'augmentation des teneurs en cuivre du sol sous l'influence des apports de phosphates dans les sols naturels.

4. EFFET DES PHOSPHATES SUR L'ABSORPTION DU CUIVRE ET SON TRANSFERT DANS LE VÉGÉTAL

En ce qui concerne l'absorption racinaire du cuivre hydrosoluble, les résultats obtenus en vases de végétation contenant du sol de lande humide (SAUR, 1990 *a*) apportent déjà des éléments de réflexion. En effet, la figure 1 fait apparaître l'existence de deux droites de régression ($r = 0{,}967$ pour P 50 et $r = 0{,}962$ pour P 100, P = 1 %) liant cuivre racinaire et cuivre hydrosoluble pour les deux doses de phosphate expérimentées. Chacune des droites de régression montre que, toutes conditions étant égales par ailleurs, la concentration en cuivre hydrosoluble est un bon indicateur de sa disponibilité pour la plante. Des dosages comparables dans la solution du sol ont déjà donné de bons résultats pour d'autres éléments nutritifs (ADAMS *et al.*, 1980; VAN PRAAG & WEISSEN, 1984). Cependant le dédoublement de la régression indique que, pour une même teneur du sol en cuivre hydrosoluble, la teneur en cuivre des racines est d'autant plus faible que le sol est riche en phosphore.

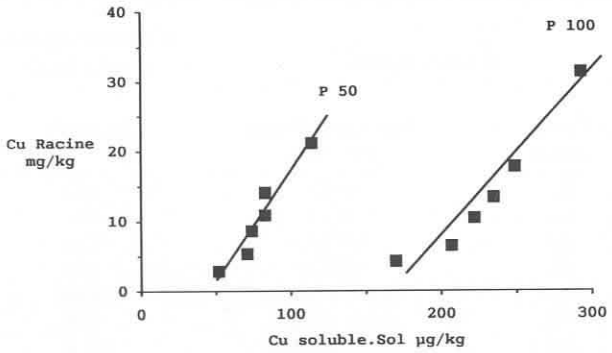

FIG. 1. — Teneurs en cuivre des racines en fonction du cuivre soluble du sol pour deux doses de phosphate apportées au sol (mg P/kg sol sec).

Cela peut s'expliquer soit par un comportement différent du pin vis-à-vis du cuivre soluble en fonction de son alimentation phosphatée, soit par l'existence d'une fraction de cuivre soluble non ou peu utilisée par la plante en raison de son association avec certains ligands organiques de la solution du sol augmentant avec l'apport de phosphate.

Par ailleurs, des résultats antérieurs (SAUR, 1989) montrent une baisse du transfert du cuivre vers les parties aériennes avec l'amélioration de la fertilisation phosphatée.

En tenant compte de ces observations obtenues par des cultures sur sol, nous allons tenter de préciser certains facteurs susceptibles d'intervenir dans l'absorption et le transfert du cuivre chez le pin par des expériences en culture hydroponique.

4.1. RÉSULTATS

4.1.1. *Absorption du cuivre complexé par différents acides organiques ou agents chélatants*

Il s'agit de tester ici l'influence de la qualité des complexes cupriques de la solution nutritive, dépendante de la fertilisation phosphatée lorsqu'il s'agit de la solution du sol, sur l'intensité de l'absorption racinaire afin de vérifier la première hypothèse formulée dans l'introduction.

Les plantules âgées de 1 mois ont été plongées pendant 24 heures dans des solutions contenant 0,1 mg Cu/l, additionnées de sept acides organiques aliphatiques, de DTPA (diéthylène-triamine penta-acétique acide) et d'EDTA (éthylène diamine-tétra-acétique acide) 10^{-3} M. Toutes les solutions ont été ajustées à pH 4,5.

Le tableau V fait apparaître des différences très grandes entre les diverses formes de ligands expérimentées sur l'absorption du cuivre par les racines. Le métal complexé par DTPA, EDTA et l'acide oxalique n'est pas du tout prélevé par la plante, les teneurs des racines étant dans ce cas identiques à celles du témoin sans cuivre. Cela traduit le fait que le cuivre présent dans la solution a été entièrement

TABLEAU V. — *Absorption du cuivre par les racines, en fonction de la nature de différentes substances complexantes existant dans le milieu.*

Solution nutritive		Cuivre des racines (mg/kg M.S.)	
Cuivre (mg/l)	Agent complexant (10^{-3} M)	Moyenne	σ
0	H_2O	12 *a*	1,3
0,1	H_2O	83 *c*	6,0
0,1	DTPA	12 *a*	1,9
0,1	EDTA	12 *a*	2,3
0,1	Acide oxalique	23 *a*	3,5
0,1	Acide citrique	52 *b*	6,8
0,1	Acide malique	111 *d*	6,9
0,1	Acide tartrique	125 *de*	4,8
0,1	Acide fumarique	136 *de*	5,7
0,1	Acide acétique	144 *e*	6,9
0,1	Acide succinique	173 *f*	13

Deux valeurs suivies de la même lettre ne diffèrent pas significativement au seuil de 1 %.

complexé par le DTPA et l'EDTA (en excès) sous une forme indisponible pour la plante.

Pour les sept acides organiques étudiés, la biodisponibilité du cuivre des complexes formés diminue avec leur capacité à extraire le métal du sol (SAUR & GOMEZ, 1989) et donc avec leur affinité chimique pour celui-ci.

Cette expérience montre donc une grande variabilité de la biodisponibilité du cuivre en fonction de la molécule complexante et accrédite la thèse selon laquelle le prélèvement du cuivre soluble dans la solution du sol dépend de la qualité des substances organiques qu'elle renferme.

Il faut cependant rester prudent dans l'interprétation physiologique de ces résultats car il ne nous a pas été possible de quantifier l'effet propre aux acides sur le métabolisme racinaire. Il ne faut donc pas exclure *a priori* que le phénomène observé soit la conséquence indirecte d'un effet des ligands organiques (sous la dépendance des concentrations en phosphate du sol) sur le métabolisme racinaire.

4.1.2. *Absorption du cuivre en présence de phosphates*

Cette expérimentation doit permettre de mettre en évidence l'existence ou l'absence d'une compétition directe entre le phosphore et le cuivre sur les phénomènes d'absorption racinaire.

Nous avons étudié l'influence du phosphate de potassium (30 et 90 mg P/l) sur l'absorption du cuivre dans des solution à 0,1 mg Cu/l.

Les résultats portés dans le tableau VI ne font pas apparaître d'antagonisme compétitif entre les deux éléments; la même expérience, mettant en œuvre du phosphate de sodium, a conduit à la même conclusion.

TABLEAU VI. — *Absorption du cuivre par les racines, en fonction de la teneur en phosphate de potassium du milieu.*

Milieu nutritif (mg/l)		Cuivre des racines (mg/kg M.S.)	
Cu	P	Moyenne	σ
0,1	0	83	5
0,1	30	79	6
0,1	90	83	5

Les valeurs ne diffèrent pas significativement au seuil de 5 %.

4.1.3. *Absorption du cuivre par des plantes contenant différents niveaux de phosphore*

Nous allons tenter de définir si des facteurs endogènes liés au niveau d'alimentation en phosphore de la plante peuvent conditionner l'absorption racinaire du cuivre.

Les plantules ont été soumises pendant 15 jours à différents niveaux d'alimentation en phosphore (0, 30, 60, 90 mg P/l) avant d'être mises en contact pendant 24 heures avec des solutions de sulfate de cuivre.

La durée relativement courte de la culture n'a pas fait apparaître de différences de production de biomasse alors que les teneurs en phosphore des tissus sont bien différenciés (tableau VII).

TABLEAU VII. — *Biomasse (mg MS/plant) et teneurs en phosphore (% MS) des semis soumis à différents niveaux de nutrition phosphatée (mg P/l)*

	P du milieu nutritif (mg/l)							
	0		30		60		90	
	Moyenne	σ	Moyenne	σ	Moyenne	σ	Moyenne	σ
Biomasse :								
– racines	40,4 *a*	3,2	40,6 *a*	3,0	42,6 *a*	2,6	43,8 *a*	1,4
– partie aérienne	125, *a*	4	125 *a*	1,8	128 *a*	6,4	128 *a*	8
Phosphore :								
– racines	0,40 *a*	0,02	1,05 *b*	0,05	1,64 *c*	0,07	1,83 *c*	0,06
– partie aérienne	0,27 *a*	0,02	0,64 *b*	0,02	0,85 *c*	0,04	0,91 *c*	0,04

Sur une même ligne, deux valeurs suivies de la même lettre ne diffèrent pas significativement au seuil de 1 %.

Les teneurs en cuivre des racines ainsi que les quantités absorbées diminuent avec la richesse en phosphore de cet organe (tableau VIII). Cet effet est statistiquement significatif pour les doses 0,25 et 0,50 mg/kg Cu/l dans la solution nutritive. Il démontre donc l'existence d'un antagonisme entre la richesse en phosphore des racines et l'absorption du cuivre par ces dernières.

TABLEAU VIII. — *Teneurs (mg Cu/kg MS) et quantités (ng Cu/plant) de cuivre absorbées pour des semis à différents niveaux de nutrition phosphatée (mg P/l), en fonction des concentrations en cuivre (mg Cu/l) du milieu nutritif.*

	P du milieu nutritif (mg/l)							
	0		30		60		90	
	Moyenne	σ	Moyenne	σ	Moyenne	σ	Moyenne	σ
Racines (teneurs)								
– dose Cu 0	10,8 *a*	2,1	13 *a*	1,7	11,2 *a*	1,9	8,4 *a*	1,0
– dose Cu 0,1	82 *a*	9	81 *a*	3,1	79 *a*	3,4	71 *a*	5,4
– dose Cu 0,25	268 *c*	18	223 *b*	28	199 *a*	17	181 *a*	8
– dose Cu 0,50	596 *d*	25	511 *c*	30	439 *b*	27	369 *a*	22
Absorption (quantité)								
dose Cu 0,50	23,6	–	20,2	–	18,1	–	15,8	–

Sur une même ligne, deux valeurs suivies de la même lettre ne diffèrent pas significativement au seuil de 1 %.

Par contre, les teneurs en cuivre des parties aériennes ne sont pas significativement affectées: elles sont respectivement de 6,9, 8,9, 11,0 et 12,7 pour tous les traitements Cu_0 $Cu_{0,1}$, $Cu_{0,25}$ et $Cu_{0,50}$, ce qui peut s'expliquer par la faible intensité du transfert pendant les 24 heures de l'expérience.

4.1.4. *Transfert du cuivre dans des plants différemment enrichis en phosphore*

Après avoir démontré l'influence des teneurs en phosphore des racines sur l'absorption du cuivre, nous voulons étudier ce même type d'interaction sur le phénomène de transfert du cuivre des racines vers les parties aériennes.

Les racines de plants de 15 jours ont été enrichies en cuivre à l'aide d'une solution à 1 mg Cu/l pendant 24 heures. Cinq groupes de plantules ont été prélevés pour l'analyse chimique et les autres maintenus 15 jours de plus dans des solutions nutritives complètes contenant des doses de 30, 60 et 90 mg P/l.

Les résultats des analyses chimiques sont indiqués dans le tableau IX.

Les productions de biomasse augmentent légèrement avec la richesse en phosphore du milieu mais sans signification statistique. L'enrichissement du milieu de culture en phosphore provoque une augmentation des teneurs en phosphore des parties racinaires et aériennes et une baisse des teneurs en cuivre des parties aériennes.

Le calcul des quantités de cuivre dans les racines et les parties aériennes permet d'établir les flux transférés dans la plante et ceux exsorbés dans le milieu de culture (tableau X).

Il apparaît que le transfert du cuivre est très nettement ralenti par l'amélioration de la nutrition phosphatée. Notons que plus de la moitié du cuivre absorbé au temps 0 a été exsorbée dans le milieu de culture mais que cet élément est légèrement mieux retenu dans les racines les plus riches en phosphore.

TABLEAU IX. – *Biomasse (mg MS/plant), teneurs en cuivre (mg/kg MS) et en phosphore (%MS) de semis soumis à différents niveaux de nutrition phosphatée (mg P/l), à 15 jours d'intervalle.*

	T=0		T=15 jours					
			P=30		P=60		P=90	
	Moyenne	σ	Moyenne	σ	Moyenne	σ	Moyenne	σ
Biomasses :								
– racines	17	0,6	39,2 *a*	0,6	40,8 *a*	0,6	42,8 *a*	0,6
– partie aérienne	72	0,6	120 *a*	1,2	123 *a*	0,8	126 *a*	1,0
Cuivre :								
– racines	1 004	12	131 *a*	3	142 *a*	3	163 *b*	4,0
– partie aérienne	13,6	1,2	18,6 *c*	1,3	13,8 *b*	1,2	11,4 *a*	1,3
Phosphore :								
– racines	1,64	0,04	0,86 *a*	0,05	1,02 *a*	0,04	1,16 *b*	0,03
– partie aérienne	1,08	0,03	0,62 *a*	0,72	0,72 *b*	0,03	0,98 *c*	0,05

Dans une même ligne, deux valeurs suivies de la même lettre ne diffèrent pas significativement au seuil de 5 %.

TABLEAU X. – *Minéralomasse, transfert (racines-parties aériennes) et exsorption du cuivre (ng Cu/plant) pour des plants soumis à différents niveaux de nutrition phosphatée (mg P/l), calculés pour une période de 15 jours.*

	T=0		T=15 jours					
			P=30		P=60		P=90	
	Moyenne	σ	Moyenne	σ	Moyenne	σ	Moyenne	σ
Cuivre :								
– partie aérienne	0,98	0,09	2,22 *c*	0,13	1,70 *b*	0,14	1,44 *a*	0,17
– racines	17,0	0,50	5,15 *a*	0,16	5,79 *a*	0,13	6,97 *b*	0,20
Exsorption	–	–	10,61 *a*	0,42	10,49 *a*	0,48	9,57 *a*	0,31
Transfert	–	–	1,24 *c*	0,12	0,72 *b*	0,08	0,46 *a*	0,04

Sur une même ligne, deux valeurs suivies de la même lettre ne diffèrent pas significativement au seuil de 5 %.

4.2. DISCUSSION

Le phosphore présent dans la solution nutritive ne semble pas influencer directement l'absorption du cuivre (tableau VI) mais la présence de substances organiques peut fortement la perturber ou l'améliorer (tableau V).

L'importance de la forme du cuivre en solution a déjà été discutée par plusieurs auteurs. GEERING et HODGSON (1969), GRAHAM (1979) affirment que le cuivre assimilable dans la solution du sol ou dans la solution nutritive artificielle est

toujours entièrement complexé, soit par les exsudats racinaires, soit par des ligands organiques du sol. Mais les chélates ne sont pas absorbés par la plante s'il s'agit d'EDTA ou de substances humiques (GRAHAM *et al.*, 1981). Il a déjà été montré que le cuivre est plus rapidement absorbé sous forme Cu^{2+} que complexé avec EDTA ou DTPA (DEKOCK & MITCHELL, 1957; WALLACE *et al.*, 1971; DRAGUN *et al.*, 1976; HARRISSON *et al.*, 1979). Mais, de manière générale, l'absorption et le transfert des complexes organiques comme l'EDTA semblent dépendre du métal concerné et de l'espèce végétale. HILL-COTTINGHAM et LLOYD-JONES (1965) ont montré que *Phaseolus vulgaris* absorbait très bien le fer chélaté et que l'absorption du chelat était contrôlée par l'état de carence en fer de la plante et la présence d'ions carbonates dans le milieu de culture. VAN PRAAG *et al.*, (1985) ont constaté sur épicea et hêtre que les complexes chimiques étaient absorbés par les racines mais très probablement immobilisés dans l'apoplasme. De même, les acides humiques de poids moléculaire élevé diminuent l'absorption du cuivre (PETRUZELLI & GUIDI, 1976). GOODMAN et LINEHAN (1979) ont montré directement, grâce à la spectrométrie de résonance paramagnétique électronique, que le cuivre et l'EDTA sont dissociés pendant l'absorption. On comprend alors que la force de liaison entre ligand et métal puisse conditionner l'intensité de l'absorption de ce dernier, conformément à nos résultats (tableau V).

Cependant, les mécanismes déterminants de l'interaction entre la fertilisation phosphatée et la nutrition cuprique sont internes au végétal; ils s'expriment à deux niveaux par l'inhibition de l'absorption d'une part et du transfert depuis les racines vers les parties aériennes d'autre part (tableaux VIII et IX). Ces résultats, exprimés en quantité de cuivre absorbée ou transférée en fonction des teneurs en phosphore des racines, sont schématisés dans les figures 2 et 3.

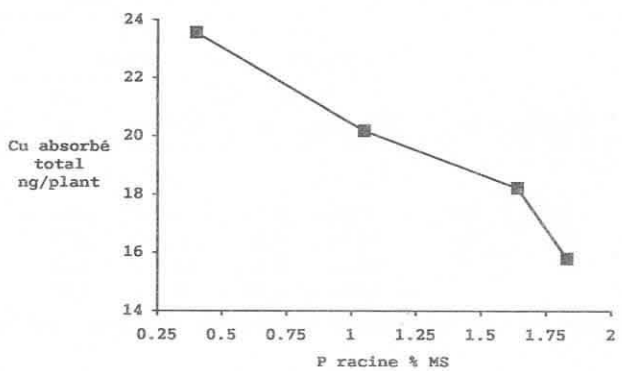

FIG. 2. — Quantité de cuivre absorbée par la plante entière en 24 heures dans une solution à 0,5 mg Cu/l en fonction des teneurs en phosphore des racines.

L'inhibition de l'absorption du cuivre par le phosphore est probablement à relier au métabolisme général qui doit conditionner, lorsqu'il est modifié par un déséquilibre de la nutrition phosphorée, soit le transfert actif du cuivre par les sites d'absorption membranaire, soit la disponibilité ou la quantité des sites d'adsorption des parois végétales. GOODMAN & LINEHAN (1979) favorisent l'hypothèse de la liaison du cuivre avec les parois plutôt qu'avec les membranes des cellules.

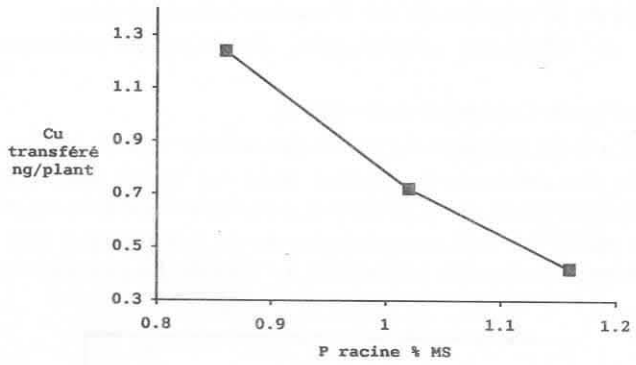

FIG. 3. — Quantité de cuivre transférée des racines au système aérien en 15 jours après un enrichissement brutal des racines en cuivre, en fonction des teneurs finales en phosphore des racines.

Il est bien évident que seul le cuivre total ayant fait l'objet d'un dosage dans les racines au cours de ce travail, on ne peut pas apporter d'éléments de réponse à ce problème.

En ce qui concerne le transfert vers les parties aériennes, on peut émettre l'hypothèse d'une intervention négative du phosphore sur le processus d'extraction du cuivre des cellules racinaires (endoderme-péricycle) vers la sève du xylème. Cette étape du transfert est considérée comme capitale par GRAHAM *et al.* (1981), à la suite d'une étude sur la tolérance à la carence en cuivre de différents cultivars de blé et de seigle.

Il faut aussi envisager le contrôle du transfert du cuivre par la composition de la sève en acides aminés ou autres transporteurs (LONERAGAN, 1981). GRAHAM (1979) a montré, grâce à une électrode spécifique, que moins de 1 % du cuivre du xylème est sous forme ionique. TIFFIN (1972) a suggéré le rôle prépondérant des acides aminés dans la mobilité du cuivre, confirmé par REILLY *et al.* (1970) et REILLY (1972), FARAGO et MULLEN (1979) ont montré le rôle de la proline dans la formation de complexes cupriques. De leur côté WALKER et WEBB (1981) suspectent l'existence de complexes d'acides aminés, organiques et phénoliques, capables de véhiculer le cuivre dans le xylème.

5. CONCLUSION

L'interaction entre la fertilisation phosphatée et la nutrition cuprique du pin est la résultante de nombreux mécanismes où interviennent le sol, les micro-organismes du sol et le végétal.

Si les teneurs en cuivre soluble du sol augmentent globalement avec la fertilisation phosphatée, probablement sous l'influence des micro-organismes du sol, l'interaction se traduit pour le végétal par une baisse des teneurs et des quantités de cuivre du système aérien.

Cet antagonisme, qui est lié aux teneurs en phosphore des tissus végétaux et non aux teneurs de la solution du sol, s'exprime à trois niveaux :

– baisse de l'efficacité solubilisatrice des exsudats racinaires vis-à-vis du cuivre;

– diminution de l'absorption du cuivre;

– diminution du transfert du cuivre des racines vers les parties aériennes.

L'ensemble des interactions étudiées dans cet article sont résumées dans la figure 4. Après cette étude, de nombreuses questions restent en suspens comme :

– le rôle précis des micro-organismes du sol qui pourrait être suivi dans des dispositifs d'incubation des sols permettant le contrôle des populations microbiennes

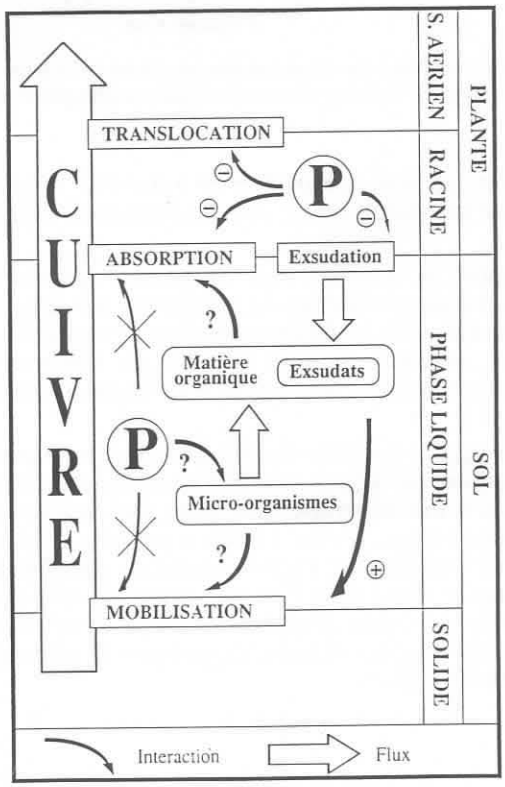

FIG. 4. – Interactions phosphore-cuivre.

grâce à la technique de dosage du cuivre hydrosoluble du sol mise au point dans notre laboratoire;

– l'importance de la qualité des complexes cupriques de la solution du sol sur l'intensité de l'absorption racinaire;

– et, sur un plan plus physiologique, la nature des interactions entre le métabolisme phosphoré et les mécanismes d'absorption et de transport du cuivre.

BIBLIOGRAPHIE

ADAMS F., BURNESTER C., HUE N. V. & LANG F. L., 1980. — A comparison of column-displacement and centrifuge methods for obtaining soil solutions. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, **44**, 733-735.

BACHACOU J., MASSON J. P. & MILLIER C., 1981. — *Manuel de la programmathèque Amance*. Serv. Doc. I.N.R.A., 516 p.

BINGHAM F. T. & GARBER M. J., 1960. — Solubility and availability of micronutrients in relation to phosphorus fertilization. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, **24**, 209-213.

DEKOCK P. C. & MITCHELL R. L., 1957. — Uptake of chelated metals by plants. *Soil Sci.*, **84**, 52-62.

DRAGUN J., BAKER D. E. & RISIUS M. L., 1976. — Growth and element accumulation by two single cross corn hybrids as affected by copper in solution. *Agron. J.*, **68**, 466-470.

FARAGO M. E. & MULLEN W. A., 1979. — Plants which accumulate metal pests. IV. A possible copper-proline complex from the roots of *Armeria maritima*. *Inorg. Chem. Acta*, **32**, L 93.

GARDNER W. K. & PARBERY D. G., 1982. — The acquisition of P by *Lupinus albus L.* I. Some characteristics of the soil/root interface. *Plant Soil*, **68**, 19-32.

GEERING H. R. & HODGSON J. F., 1969. — Micronutrient cation complexes in soil solution: III. Characterization of soil solution ligands and their complexes with Zn^{2+} and Cu^{2+}. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, **33**, 54-59.

GOODMAN B. A. & LINEHAN D. J., 1979. — An electron paramagnetic resonance study of the uptake of Mn(II) and Cu(II) by Wheat roots. *In:* HARLEY J. L. & RUSSELL R. S., Eds, *The root-soil interface*, Academic Press, 67-82.

GRAHAM R. D., 1979. — Transport of Copper and Manganese to the xylem exudate of Sunflower. *Plant, Cell. Envir.*, 139-143.

GRAHAM R. D., ANDERSON G. D. & ASCHER J. S., 1981. — Absorption of Copper by Wheat, Rye and some hybrid genotypes. *J. Pl. Nutr.*, **3**, 679-686.

HARRISON S. J., LEPP N. W. & PHIPPS D. A., 1979. — Uptake of Copper by excised roots. II. Copper desorption from the free space. *Z. Pflanz. Bodenkunde*, **94**, 27-34.

HILL-COTTINGHAM D. G. & LLOYD-JONES C. P., 1965. — The behaviour of Iron chelating agents with plants. *J. Exp. Bot.*, **16**, 233-242.

LEYVAL C. & BERTHELIN J., 1983. — Effets rhizosphériques de plantes indicatrices de grands types de pédogenèse sur quelques groupes bactériens modifiant l'état des minéraux. *Rev. Ecol. Biol. Sol.*, **20**, 191-206.

LINDSAY W. L., 1974. — The role of chelation in micronutrient availability. *In:* CARSON, Ed., *The plant root and its environment*, Univ. Press, Virginia.

LONERAGAN J. F., 1981. — Distribution and movement of Copper in plants. *In:* LONERAGAN J. F. *et al.*, Eds., *Copper in soils and plants* p. 165-188, Academic Press, Sydney.

MENCH M., MOREL J. L., GUCKERT A. & GUILLET B., 1988. — Metal binding with root exsudates of low molecular weight. *J. Soil Sci.*, **39**, 521-527.

MERCKX, 1983. — Complexation of Cobalt, Zinc and Manganese in the rhizosphere of Maize and Wheat. *Doktor Fak., Landbouw, KU Leuven*, 190 p.

NIELSEN N. E., 1976. — The effect of plants on the Copper concentration of the soil solution. *Plant Soil*, **45**, 679-687.

PETRUZELLI G. & GUIDI G., 1976. — Influence of soil organic matter on Copper availability to plant. *Z. Pflanz. Bodenkunde*, **6**, 679-684.

REILLY C., 1972. — Amino-acids and amino-copper complexes in water-soluble extracts of Copper-tolerant and non-tolerant *Becium homblei*. *Z. Pflanzenphysiol. Bd.*, **66**, 294-296.

REILLY C., ROWEL J. & STONE J., 1970. — The accumulation and binding of Copper in leaf tissue of *Becium homblei*. *New Phytol.*, **69**, 993-997.

RÖHMELD V. & MARSCHNER H., 1983. — Mechanism of Iron uptake by Peanut plant. I. Fe(III) reduction, chelate splitting and release of phenolics. *Plant Physiol.*, **71**, 949-954.

SAUR E., 1989. — Effect of phosphate fertilization on trace element nutrition of *Pinus pinaster* grown in a sandy acid soil. *In:* DREYER E. *et al.*, eds. *Forest tree physiology, Ann. Sci. Forest.*, **46 suppl.**, 690s-693s.

SAUR E., 1990 *a*. – Influence d'une fertilisation cuprique et phosphatée sur la croissance et la nutrition du Pin maritime (*Pinus pinaster Soland in Ait.*) en sol sableux riche en matière organique. *Ann. Sci. Forest.*, **47**, 67-74.

SAUR E., 1990 *b*. – Effet de l'apport de phosphore, de carbonate de calcium et d'oligo-éléments (Cu, Mn, Zn, B) à trois sols sableux acides sur la croissance et la nutrition de semis de *Pinus pinaster Soland in Ait*. II. Nutrition en oligo-éléments. *Agronomie*, **10**, 23-28.

SAUR E., 1990 *c*. – Mise au point bibliographique au sujet de la nutrition oligo-minérale des plantes supérieures. Problèmes sylvicoles. *Ann. Sci. Forest*, **47**, 367-389.

SAUR E. & GOMEZ A., 1989. – Influence de l'activité rhizosphérique du Pin maritime (*Pinus pinaster Soland in Ait.*) sur les teneurs du sol en cuivre soluble à l'eau. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **309**, 465-470.

SEILLAC P., 1960. – Contribution à l'étude de la nutrition du Pin maritime: Variations saisonnières de la teneur des pseudophylles en azote, potassium et acide phosphorique. *Thèse Doct.*, Univ. Bordeaux, 60 p.

TIFFIN L. O., 1972. – Translocation of micronutrients in plants. *In:* MORTVEDT J. J., GIORDANO P. M. & LINDSAY W. L., eds, *Micronutrients in Agriculture*, Soil Sci. Soc. Am. Inc, Madison, Wisconsin, 199-229.

VAN PRAAG H. J. & WEISSEN F., 1984. – The intensity factor in acid forest soils: extraction and composition of the soil solution. *Pédologie*, **34**, 203-214.

VAN PRAAG H. J., WEISSEN F., SOUGNEZ-REMY S. & CARLETTI G., 1985. – Aluminium effects on spruce and beech seedlings. II. Statistical analysis of sand culture experiments. *Plant Soil.*, **83**, 339-356.

WALKER C. D. & WEBB J., 1981. – Copper in plants: forms and behaviour. *In:* Proc. Golden Jubilee Int. Symp. *Copper Soil plants*, Academic Press, Sydney, 182-212.

WALLACE A., SUFI S. M. & ROMMEY E. M., 1971. – Regulation of heavy metal uptake and responses in plants. *Proc. 6th Int. Coll. Pl. Anal. Fert. Prob.*, Tel-Aviv, 545-558.